Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. K. Betke

Experimentelle Untersuchungen zur Form und Funktion der Retikulozyten aus überstürzter Erythropoese

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Renate Elisabeth Bergner
aus Manila (Philippinen)

1963

7517

Aus der Kinderklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. K. Betke

Experimentelle Untersuchungen zur Form und Funktion der Retikulozyten aus überstürzter Erythropoese

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Renate Elisabeth Bergner
aus Manila (Philippinen)

1963

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Dekan: Professor Dr. med. Dr. med. dent. E. Fröhlich

Berichterstatter: Professor Dr. med. K. Betke

Fotodruck PRÄZIS · Tübingen

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einführung und Fragestellung	1
II.	Literaturübersicht	3
III.	Methodik	9
IV.	Ergebnisse	13
V.	Diskussion der Ergebnisse	18
VI.	Zusammenfassung	21
VII.	Literaturverzeichnis	22
VIII.	Tabellen	27

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549606_0074

I. Einführung und Fragestellung

In der Klinik sind die Erythrozytenzahl und die Hämoglobinkonzentration des Blutes unerläßliche Standardgrößen. Aus der Hämoglobinkonzentration wird auf Grund der Erfahrung eine normale oder gestörte Sauerstoffversorgung des Organismus abgeleitet. Das Verhältnis der Hämoglobinkonzentration zur Erythrozytenzahl und zu den morphologischen Abmessungen der roten Zellen wie diese Größen selbst sind wesentliche Kriterien für die Beurteilung von Erkrankungen des roten Systems.

Gegenüber diesen morphologischen Größen der roten Zellen sind deren funktionelle Eigenschaften weitgehend im Hintergrund geblieben. Untersuchungen über die Gastransportfunktion des Blutes haben noch keinen festen Platz in der Klinik gefunden. Wegen ihres derzeit noch großen Aufwandes an Technik und Meßempfindlichkeit werden sie auch Speziallaboratorien vorbehalten bleiben. So muß es von Interesse sein, zwischen den geläufigen Daten des roten Blutbildes und der Gastransportfunktion des Blutes Zusammenhänge zu suchen.

In den letzten Jahren konnten BARTELS et al. zwischen mehreren morphologischen Größen der Erythrozyten und der O_2-Affinität teilweise enge Korrelationen bestimmen, zunächst im Blut von Säuglingen, später auch im Blut von Schaf- und Ziegenlämmern (4 bis 9; 30 bis 32). Neuerdings sind diese Korrelationen auch im Blut junger Kaninchen ermittelt worden (33).

Zuvor hatten schon VALTIS und BAIKIE (41) an Hand von Tierexperimenten eine Abhängigkeit der O_2-Affinität von der mittleren Dicke postuliert. Dieser Zusammenhang zwischen Dicke und O_2-Affinität konnte beim Menschen nur bei normozytären Anämien des Kindesalters festgestellt werden (31, 33).

Die Ergebnisse der Arbeiten kann man wie folgt interpretieren: Zwischen den erythrozytenmorphologischen Daten und der O_2-Affinität findet man positive Korrelationskoeffizienten. D.h. große Volumina, große Oberfläche oder große Dicken der Erythrozyten gehen mit einer hohen O_2-Affinität des Blutes einher, während umgekehrt kleine morphologische Abmessungen einer niedrigeren O_2-Affinität parallel gehen. Die Korrelationen erlauben indessen noch keine Rückschlüsse auf kausale Zusammenhänge (4 bis 9, 31 bis 33).

Es stellte sich nun die Frage, ob die Korrelationen zwischen Formelementen und Funktionen der roten Zellen auch unter anderen experimentellen Voraussetzungen nachzuweisen wären. Hierzu sollten die Retikulozyten bzw. die als größer beschriebenen Zellen junger Zellpopulationen geeignet sein.

Auf folgende Punkte war demnach näher einzugehen:

1. Sind die Retikulozyten tatsächlich voluminöser als Erythrozyten? D.h. es waren die Abmessungen der Retikulozyten unter Berücksichtigung der Literaturangaben zu überprüfen.
2. Wie verhält sich die O_2-Transportfunktion der Retikulozyten im Vergleich zu derjenigen normaler Erythrozyten?

Es zeigte sich erneut, daß die Retikulozyten unter den gewählten Versuchsbedingungen ein deutlich größeres Volumen als reife Erythrozyten besitzen müssen. Die O_2-Affinität junger Zellen wurde signifikant höher bestimmt als diejenige älterer Zellen. Es war hingegen nicht möglich, die Gastransportfunktion der Retikulozyten selbst darzustellen, da die methodischen Voraussetzungen eine Einschränkung der Definition der Gastransportfunktion auf retikulozytenreiches Blut bzw. Blut mit vorwiegend jungen Zellpopulationen erforderte.

II. Literaturübersicht

Bevor auf die Methodik und die Ergebnisse eingegangen wird, soll die einschlägige Literatur referiert werden. Zunächst erscheint es angebracht, kurz einige Angaben früherer Autoren wiederzugeben, um dann den von WEICKER herausgestellten formalen Ablauf der Erythropoese zu rekapitulieren.

a) Erythropoese

L. BOSTROEM und C.M. PLUM stellten die Hypothese auf, daß die Erythrozyten sich aus Plasmaabschnürungen der Normoblasten herausbilden; damit sollte die vermeintliche Mark-Peripherie-Diskrepanz behoben werden (zit. nach 46, 47).

JORDAN glaubte an eine Differenzierungsmöglichkeit der Lymphozyten, die als pluripotent angenommen wurden (zit. nach 45).

ROLSHOVEN stellte die Hypothese einer schizogonalen Duplikation der Erythrozyten auf (zit. nach 45).

Schon ISTAMOVA lieferte 1926 den Beweis, daß die Retikulozytenzahl im peripheren Blut parallel mit der Knochenmarksaktivität verläuft (zit. nach 21).

1942 errechnete HEILMEYER durch Bestimmung der Urobilinmauserung sowie auch durch die Beobachtung der Reifungszeit in vitro, daß das Knochenmark imstande ist, täglich 200 Millionen Erythrozyten zu bilden.

Wichtige Beiträge zur Regelung der Erythropoese gaben in letzter Zeit die Angaben von RUHENSTROTH-BAUER (34). Demnach scheint die O_2-Verminderung, sei es durch Hypoxie oder Blutentzug, ein wichtiger Reiz der Erythropoese zu sein.

1953 veröffentlichte WEICKER seine Ergebnisse der quantitativen und qualitativen Erythropoese und führte erstmalig neue Begriffe in die Nomenklatur ein (42). Nach seiner Auffassung ist die Stammzelle der Erythropoese eine undifferenzierte Retikulumzelle, aus der der K 2-Proerythroblast entsteht. An diesem vollzieht sich eine hemi-homo-hemi-heteroplastische Teilung, aus der zwei K 1-Erythroblasten entstehen. Der eine K 1-Erythroblast entwickelt sich wieder in einen K 2-Proerythroblasten zurück, bleibt also der Re-

generation zur Verfügung, während der andere drei sukzedane Reifungsteilungen vollzieht; so bildet sich der K 1/2-, K 1/4- und K 1/8-Proerythroblast. Unterdessen hat sich die Hämoglobinisierung des Zellplasmas vollzogen. Die Kernplasmarelation hat sich zugunsten des Plasmas verschoben. Dieser gesamte Zyklus scheint klaren Gesetzen unterworfen zu sein. Durch die Annahme der ersten hemi-homo-hemi-heteroplastischen Kariokinese kann die ständige Korrelation zwischen Zellbildung im Knochenmark und Zellbedarf der Peripherie im Gleichgewicht befindlich erklärt werden.

Nach der Entkernung des K 1/8-Proerythroblasten bilden sich die Retikulozyten, die dann nach einer Reifungszeit von 4 Tagen, vielleicht durch eine einmalige Teilung, in die Erythrozyten übergehen. WEICKER nimmt an, im Gegensatz zu SCHILLING, daß die Retikulozyten obligat in die Erythropoese eingeschaltet sind (45). Soweit bekannt, sind lediglich beim Schaf keine Retikulozyten nachzuweisen (48). Als Reifungszeit betrachtet WEICKER die Zeitspanne zwischen der Entkernung des K 1/8-Proerythroblasten und dem Verlust der Substantia granulofilamentosa (45).

Die unterschiedlichen Angaben der Reifungszeit der Retikulozyten vieler anderer Autoren beruhen wohl auf der Tatsache, daß jeder eine andere Vorstellung der zeitlichen Markierung hat (25, 44 und 45).

So gab SENO die Reifungszeit mit 17 Stunden an, MORAWITZ, DENNECKE und HEILMEYER-WESTHAUSER mit 1 - 2 Tagen in vitro, YOUNG und LAWRENCE, deren Experimente wohl am ehesten den physiologischen Bedingungen entsprechen, mit 5 - 6 Tagen und KÜNZER mit 2 Tagen.

Wenngleich auch die Frage der Reifungszeit noch nicht gelöst ist, darf man wohl als wahrscheinlich annehmen, daß die Retikulozyten einen festen Platz in der Erythropoese einnehmen.

b) Das Retikulozytenvolumen

WINTROBE machte 1943 die ersten Angaben über das Retikulozytenvolumen an Hand einer graphischen Darstellung der Werte einer perniziösen Anämie. Er berechnete das Einzelvolumen der Retikulozyten mit etwa 110 μ^3 (45).

1953 berechnete WEICKER das Einzelretikulozytenvolumen aus denselben WINTROBEschen Kurven mit etwa 300 μ^3.

WEICKER vervollständigte dann tierexperimentell diese Angaben (45). Er anämisierte Kaninchen, teils durch Hämolyse, teils durch Entblutung. Die verschiedenen hämatologischen Werte wurden in fortlaufenden täglichen Kontrollen geprüft. Nach 3 Tagen war die Erythrozytenzahl von rund 5 Millionen auf 1,8 bis 1 Mill./mm^3 heruntergegangen, und parallel dazu der Hämatokrit von 30 % auf 14 bis 9 %. (Bei Hämolysen sinken die Erythrozytenzahl und der Hämatokritwert stärker als bei Blutentnahmen, ebenso erreicht man einen höheren Retikulozytenprozentsatz). Dem nachfolgenden Anstieg der Erythrozytenzahl ging ein Anstieg des mittleren Erythrozytenvolumens parallel. Aus verschiedenen Werten des ansteigenden Schenkels der Krise errechnete WEICKER ein Retikulozytenvolumen der Kaninchen von 180 μ^3 (45 und 46). Dieses bedeutet ein 2 1/2 bis 3 mal größeres Volumen als es die Normozyten der Kaninchen haben (60 μ^3) (45).

Diese Angaben wurden später im Prinzip von verschiedenen Autoren bestätigt:

KÜNZER (25, 26) gab an Hand ähnlicher tierexperimenteller Untersuchungen ein Retikulozytenvolumen von 150 bis 200 % des Ausgangswertes an; allerdings war letzterer mit 68,3 μ^3 etwas höher als derjenige von WEICKER (25). KÜNZER erreichte den "Krisenpunkt" schon am zweiten Tag nach der Entblutung (25) im Gegensatz zu WEICKER, der ihn erst am vierten Tag erreichte (45 bis 47).

Ähnliche Experimente führte auch AMBS durch (1 und 2). Er anämisierte Albinoratten und berechnete ein 2 - 3 mal größeres Retikulozytenvolumen. Er erhob jedoch den Einwand, daß diese künstlich herbeigeführten Krisen nicht als physiologisch zu betrachten seien.

BETKE et al. (10) errechneten das Retikulozytenvolumen aus den Kurven zweier mit Rh-Inkompatibilität erkrankter Neugeborener, die einen hohen Retikulozytenprozentsatz aufwiesen. Auch sie kamen zu einem 2 1/2 - 3 mal größeren Volumen. Ebenso stimmen die Werte von RUHRMANN (35) mit den WEICKERschen Angaben überein; er untersuchte ein Kind mit einer Erythroblastopenie (35, 15).

Aus Flächenverteilungskurven von Retikulozyten des Neugeborenen kann man, wie HANSSLER und RIEGEL (20) mitgeteilt haben, schließen, daß die Retikulozyten in einem Ausstrichpräparat nicht größer als reife Erythrozyten sind.

Somit wäre unter bestimmten Voraussetzungen (tierexperimentell und bei Anämien der Neugeborenen) die Annahme berechtigt, daß die Retikulozyten im Mittel ein doppelt bis dreifach so großes Volumen wie die reifen Erythrozyten besitzen.

Eine weitere Frage ist danach der Übergang der Retikulozyten in die Erythrozyten.

WEICKER glaubt, daß die Retikulozyten nach dem Verlust ihrer Substantia granulofilamentosa noch 2 Tage ihr großes Volumen beibehalten, um dann nach einer einmaligen Teilung in 2 Erythrozyten überzugehen. Der doppelt hohe Hämoglobingehalt der Retikulozyten unterstützt seine Meinung (42). Wahrscheinlich sind auch die Achromozyten, die nur eine leere Hülle der primitiven Retikulozyten darstellen, aus dem Teilungsprozeß hervorgegangen (45).

Diese Angaben riefen einen starken Widerspruch verschiedener Autoren hervor.

KÜNZER (25, 26) zweifelt an einer Retikulozytenteilung, ebenso AMBS und SCHNEIDER (1 und 2). AMBS untersuchte den Hämoglobingehalt junger unreifer Zellen und fand, daß sie in der Regel einen höheren Hämoglobingehalt aufweisen, der jedoch von Zelle zu Zelle sehr variiert.

AUGUSTIN und RAPOPORT (3) befaßten sich ebenso mit der Frage der Retikulozytenteilung. Sie erwähnten die Möglichkeit einer Schrumpfung und untersuchten den Hämoglobin- und Wassergehalt

junger unreifer Zellen. Bei der Annahme einer Schrumpfung müßte es aber zu einer extrem hohen Hämoglobinkonzentration durch Wasserverlust kommen, die nicht nachzuweisen ist. Dennoch lehnen die Autoren eine Teilung ab.

NEUBERGER und NIVENS (zit. nach 1, 2) untersuchten die Blutregeneration bei anämisierten Kaninchen. Sie verfütterten eine eiweißarme Diät mit N^{15}-markiertem Glycin und verfolgten dann die Erythropoese. Sie bemerkten eine beschleunigte Blutregeneration und fanden, daß diese ausgeschwemmten Erythrozyten eine wesentlich kürzere Lebensdauer besitzen. Gleichzeitig beobachteten sie, daß das markierte Häm vorwiegend in den jüngeren Zellen vorzufinden war und folgerten daraus, daß der Retikulozyt eine obligate Entwicklungsphase in der Erythropoese sei. Neuerdings beschäftigten sich BORSOOK et al. (12) mit der Frage der Hämoglobinsynthese junger Zellen. Diese Autoren verabreichten den Kaninchen mit C_{14} markiertes Leucin oder markiertes Tritrium und verfolgten dann die Erythropoese und Hb-Aktivität im normalen und anämischen Knochenmark und peripheren Blut. Sie bemerkten, daß bei starken Anämien große Retikulozyten auftraten, die eine starke Hb-Synthese aufweisen. Diese Retikulozyten stellen eine eigene Zellpopulation dar und sind mit den normalen Retikulozyten nicht identisch. Es ist anzunehmen, daß diese großen Retikulozyten direkt von den polychromatischen Erythroblasten abstammen, während die Retikulozyten der normalen Erythropoese von den orthochromatischen Erythroblasten ausgehen. Hiermit ließe sich der Größenunterschied beider Retikulozyten erklären. Diese Retikulozyten haben außerdem noch eine auffallend hohe Potenz Hämoglobin zu synthetisieren, was mit der Annahme harmonisiert, daß sie direkt von den polychromatischen Erythroblasten abstammen. Die Autoren bemerkten, daß diese Population großer Retikulozyten nur unter besonderen Bedingungen auftrat, z.B. bei einer Anämie oder einer Knochenmarksstimulierung.

Somit läßt sich mit einiger Sicherheit die Behauptung aufstellen, daß die großen Retikulozyten, die in der Regenerationsphase einer Anämie auftreten, nicht den kleineren Retikulozyten der normalen Erythropoese entsprechen. Weiterhin bewiesen BORSOOK et al., daß diese großen Retikulozyten sich nicht teilen, sondern nach kurzer Zeit wieder eliminiert werden (12).

c) O_2-Affinität des Blutes unterschiedlichen Alters

Unseres Wissens hat man sich bisher kaum mit der O_2-Affinität in bezug auf in vivo Alterung menschlicher oder auch tierischer Erythrozyten beschäftigt. Erstmalig haben EDWARDS et al. (14) 1961 solche Untersuchungen an menschlichen roten Zellen durchgeführt und die jüngeren von den älteren Zellen durch Sedimentation getrennt. Die Autoren kommen zu dem Schluß, daß die jüngeren Zellen eine niedrigere O_2-Affinität aufweisen als die älteren. BARTELS et al. (4) haben 1961 andererseits eine befriedigende Korrelation zwischen O_2-Affinität und HbA_3-Anteil des Blutes gefunden, d.h. ein hoher HbA_3-Anteil, der als Alterungsprodukt der HbA_1-Fraktion gilt, geht mit einer niedrigen O_2-Affinität einher.

III. Methodik

a) Versuchsgang

Die Untersuchungen wurden an 10 ausgewachsenen Kaninchen durchgeführt, deren Gewicht zwischen 2500 g und 4000 g schwankte.

Ich entnahm das Blut einer Ohrvene. Die Gerinnung wurde durch Zusatz von pulverisiertem Heparin verhindert. Bestimmt wurden die Hämoglobinkonzentration, Hämatokrit, Erythrozytenzahl und Retikulozytenzahl; ferner wurden zwei Ausstriche angefertigt. An drei fortlaufenden Tagen wurden die Normal- oder Ausgangswerte bestimmt.

Dann erfolgte der Blutentzug von rund 15 ml Blut pro kg Körpergewicht. Wenn diese Entnahme am ersten Tag nicht vollständig möglich war, erfolgten weitere Blutentnahmen an den darauffolgenden Tagen.

Die Hauptmenge des Blutes des ersten Aderlasses diente entweder der Bestimmung der O_2-Affinität oder des Zell- und Plasma-pH-Wertes. Daneben wurde wieder ein rotes Blutbild angefertigt, welches man in den folgenden Tagen nach dem Aderlaß täglich wiederholte. Die Retikulozytenkrise war in der Regel am 4. Tag nach der großen Blutentnahme erreicht.

Zum Zeitpunkt des Retikulozytenmaximums wurde wieder eine größere Menge Blut unter Zusatz von Heparin entnommen.

Durch Zentrifugieren mit etwa 3000 g erfolgte eine Trennung von Plasma und Zellen. Das Plasma wurde abgehoben; außerdem wurde vorsichtig die obere und untere Schicht der Zellen isoliert und in Plasma resuspendiert, so daß ein annähernd normaler Hämatokrit entstand. Auf diese Weise wurde erreicht, daß Blutproben mit jüngerer retikulozytenreicher sowie

älterer Zellpopulationen entstanden (22, 23, 28). In diesen Blutproben führte ich nun ebenfalls die oben angegebenen Untersuchungen durch.

b) Untersuchungen oder Methoden

Rotes Blutbild

Die Erythrozytenzahl wurde 2- bis 4fach mittels geeichter Pipetten und der Neubauer-Kammer bestimmt.

Die Hämoglobinkonzentration wurde als Cyan-Hämoglobin nach BETKE und SAVELSBERG bestimmt. Außerdem wurde die Menge des aktiven Hämoglobins mittels der Hüfnerschen Zahl (1 g Hb bindet 1,34 ml O_2) aus der Sauerstoffkapazität errechnet.

Der Hämatokrit wurde zweifach in der Hawksleyschen Mikrohämatokritzentrifuge bestimmt.

Der Erythrozytendurchmesser wurde nach HANSSLER und RIEGEL aus der mittleren Erythrozytenfläche (F) errechnet. Getrocknete und ungefärbte Ausstriche wurden auf einen Zeichentisch projiziert, 2000fach vergrößert, die Umrisse nachgezeichnet und diese Flächen planimetriert. Ausgewertet wurden jeweils 100 Erythrozyten.

Retikulozytenzahl: Die Bestimmung des Retikulozytenprozentsatzes erfolgte nach der Methode von GROSS-SCHWARZKOPF mit Brillantkresylblau. Es wurden jeweils 4000 Zellen ausgezählt.

Berechnungen:

Aus den vorhergehenden Größen konnte berechnet werden:

Mittleres Einzel-Volumen (MCV): $\frac{\text{Hämatokrit \% (CV)}}{\text{Erythrozytenzahl}}$ (μ^3)

Mittlere Hämoglobin-Konzentration (MCHC):

$$\frac{\text{Hämoglobinkonzentration g\%}}{\text{(CV)}} \quad (\%)$$

Mittlerer Hämoglobingehalt (MCH):

$$\frac{\text{Hämoglobinkonzentration g\%}}{\text{Erythrozytenzahl}} \quad (\mu\mu g)$$

Mittlere Dicke (T): $\frac{\text{Hämatokrit (CV) \%}}{\text{Fläche (F)}}$ (μ)

Mittlerer Durchmesser (D): $2\sqrt{\frac{\text{Fläche}}{\Pi}}$ (μ)

Mittlere Oberfläche (MSA): 2 x Fläche + II x T x D (μ^2)

Retikulozytengrößen:

Bei den Bestimmungen der Retikulozytengrößen (Einzelvolumen, Dicke, Durchmesser und Oberfläche) verwendete ich die von WEICKER angegebene Formel (45, 46).

$$R\ Vol = \frac{100\ (100-R\%_2\ Ery\ ps\ Vol_1 - (100-R\%_1)\ Ery\ ps\ Vol_2}{R\%_1\ (100 - R\%_2) - R\%_2\ (100 - R\%_1)}\ \mu^3$$

Zu dieser Formel:

$R\%_2$ = Retikulozytenprozentsatz des zweiten Vergleichstages

$Ery\ ps\ Vol_1$ = Einzelvolumen der Erythrozyten des ersten Vergleichstages

$R\%_1$ = Retikulozytenprozentsatz des ersten Vergleichstages

$Ery\ ps\ Vol_2$ = Einzelvolumen des zweiten Vergleichstages

Zur Bestimmung der Retikulozytendicke, Durchmesser und Oberfläche setzte ich in die WEICKERsche Formel die entsprechenden Werte ein.

Die O_2-Bindungskurve wurde nach Angaben von BARTELS und HARMS aufgestellt. Es handelt sich um in vitro-Kurven.

Mit den jeweiligen Gasgemischen bekannter Zusammensetzung wurden die Blutproben in Kugeltonometern bei 37° C äquilibriert. Die O_2-Kapazität bestimmte ich nach Äquilibrieren mit einem Gasgemisch, das etwa 40 Torr CO_2-Druck und zwischen 210 - 230 Torr O_2-Druck aufwies. Die Analysen sind in 1,0 oder 0,5 ml Blutproben im manometrischen Apparat nach VAN SLYKE durchgeführt worden.

Zur Berechnung der prozentualen O_2-Sättigung wurde vom Analysenwert als physikalisch gelöste O_2-Menge 0,0031 ml O_2 je Torr O_2-Druck und 100 ml Blut abgezogen.

Zur Korrektur der O_2-Druckwerte auf pH_s auf 7.4 wurde der gasometrisch ermittelte pH-Wert des Serums der jeweiligen Analyse und der Umrechnungsfaktor von DILL, GRAYBIEL, HURTADO und TAQUINI verwendet. Die für ein pH 7.4 ermittelten Wertepaare wurden in ein Koordinatensystem eingetragen, dessen Abszisse $\log pO_2$ und dessen Ordinate $\log 100 \times \frac{100 - SO_2}{SO_2}$

Bei solchen Darstellungen verläuft die O_2-Bindungskurve des Kaninchens zwischen 30 - 90 % O_2-Sättigung fast als Gerade.

Die Einzelkurven wurden durch Parallelverschiebungen benachbarter Punkte zur Standardmittelwertkurve der Kaninchen dargestellt (BARTELS und HARMS).

Die Lage der O_2-Bindungskurve wird durch Angabe des O_2-Druckes bei 50 % O_2-Sättigung des Blutes definiert (T 50).

Der pH-Wert wurde mit einer Glaselektrode (Metrohm) gemessen; das Meßgerät war ein Hämoxytensiometer II (Bartels-Eschweiler) Die Eichung erfolgte mit 3 Phosphatpuffern : pH 7.104, 7.419 und 7.702 sowie dem internationalen standard buffer (Radiometer) pH 7.381. Der intrazelluläre pH-Wert wurde mit Hilfe von PVC gemäß den Anleitungen von HILPERT et al. gemessen (22)

c) Kritik der Methoden

1. Bei Berechnung der mittleren Oberfläche und der mittleren Dicke der Erythrozyten müssen Daten miteinander in Relation gebracht werden, die einerseits im flüssigen Medium (Zahl der Erythrozyten, Hämatokrit und Einzelvolumen), andererseits aus Trockenpräparaten (mittlere Erythrozytenfläche, Durchmesser) bestimmt werden. Die Durchmesserbestimmung in der feuchten Kammer ist jedoch technisch so aufwendig und zudem so wenig ergiebig, daß sie für größere Serienuntersuchungen nicht in Betracht kommt. (TOMPKINS gibt das Erythrozytendurchmesser-Mittel aus 20 Bestimmungen pro Person an). Die Verminderung des Durchmessers um etwa 10 - 15 % durch die Trocknung wirkt sich besonders auf die Dickenbestimmung aus, weniger auf die Bestimmung der Oberfläche, solange deren Berechnung ein Zylinder zugrunde gelegt wird. Die Dicke der Zellen weist demnach auch die größten Schwankungen auf; absolut gesehen dürften sie bei meinem Vorgehen zu hoch angegeben werden.

2. Die voranstehenden Einwände gelten auch für die Masse der Retikulozyten. Bei der Oberflächenbestimmung der Retikulozyten kommt noch hinzu, daß man auf Grund der Volumina und der Durchmesser diesen Zellen eher eine sphärozytäre Form oder die Form eines Rotationsellipsoids zuordnen müßte. Die von mir berechnete Oberfläche dürfte in vivo kleiner sein. Die Aussage über die Abmessungen der Retikulozyten wird durch die große Streuung der Meßresultate stark eingeschränkt. Neben den angeführten Einwänden und Gründen dürften die Schwankungen bei den Retikulozytenvolumen auch noch auf folgende Tatsache zurückgehen: Die von WEICKER angegebene Formel ist, wie er schon selbst ausgeführt hat, nur im "ansteigenden Schenkel der Krise" anwendbar, d.h. bei meinen Versuchen nur während der Versuchstage 3 - 5 (42 bis 45).

3. Die Gasanalysen wurden aus Vergleichsgründen bei 37° C durchgeführt. Um den realen Verhältnissen näherzukommen, müßte eine Umrechnung auf die Körpertemperatur der Kaninchen, 39° C, erfolgen. Ferner wurde der Bohrfaktor benutzt, der für den Menschen bestimmt wurde, da für Kaninchenblut meines Wissens noch kein Bohrfaktor vorliegt. Der hierdurch entstehende Fehler ist jedoch, wie überschlägige Berechnungen sofort ergeben, zu vernachlässigen.

IV. Ergebnisse

a) Morphologische Daten

In Tabelle Nr. 1 a - h sind die hämatologischen Daten der verschiedenen Versuchstiere niedergelegt, wobei die Daten von jedem Tier getrennt wiedergegeben werden.

Es ist daraus zu ersehen, daß die Hämoglobinkonzentration, Erythrozytenzahl und Hämatokrit nach dem Blutentzug reduziert sind, hingegen im Durchschnitt Einzelvolumen, Dicke, Durchmesser und Oberfläche der roten Zellen ansteigen. Für den jeweiligen Krisentag sind die hämatologischen Daten und Werte der oberen und der unteren Zellschicht mit Angaben der Werte des Gesamtblutes in Tabelle 2 b dargestellt.

Diese Änderungen der hämatologischen Daten sind auch in den Abbildungen 1 und 2 zu erkennen. Man ersieht daraus, daß bei allen Tieren nach der Blutentnahme eine starke Reduzierung der Hämoglobinkonzentration, Erythrozytenzahl und des Hämatokrits erfolgte, die am zweiten Tag ihren Tiefpunkt erreicht. Während dann der Hämatokrit schneller wieder ansteigt und auch gegen Ende des Versuchsganges fast zu seinem Ausgangswert kommt, bleiben die Werte der Hämoglobinkonzentration und Erythrozytenzahl etwas zurück.

Parallel mit diesen Veränderungen sieht man das Ansteigen von Einzelvolumen, Dicke, Durchmesser und Oberfläche der Erythrozyten, die mit dem Anstieg der Retikulozytenzahl übereinstimmen.

Die oben genannten Größen erreichen zum Zeitpunkt der Retikulozytenkrise ihr Maximum (Abb. 2).

Im Durchschnitt betrachtet, verlaufen die Kurven alle ähnlich. Bei zwei Tieren waren aber Schwierigkeiten bei der Blutentnahme entstanden, so daß durch häufige kleinere Blut-

entzüge keine reguläre Krise zustande kam. Die Verläufe beider Kurven zeigen das Retikulozytenmaximum erst nach dem vierten und fünften Tag der Blutentnahme (Tab. 1 e und f).

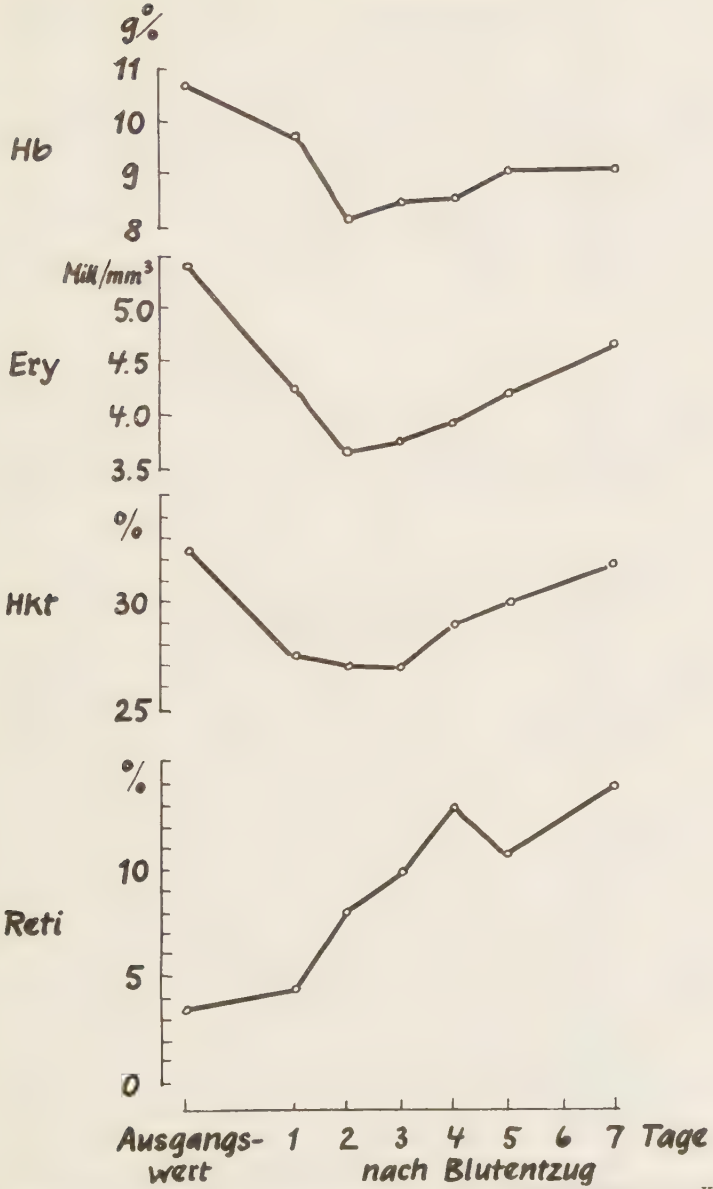
Aus den hämatologischen Daten der verschiedenen Tiere berechnete ich die mittleren Ausgangswerte, die auch als Normalwerte der Kaninchen betrachtet werden können (Tab. 2 a).

Der mittlere Hämoglobingehalt betrug 10,86 g%, die Erythrozytenzahl 5,36 Mill./mm^3 und der Hämatokrit 32,64 %. In derselben Abbildung 2 a sind auch die mittleren Ausgangswerte von Einzelvolumen, Dicke, Durchmesser und Oberfläche angegeben. Hier sind die Spannungsweiten größer, insbesondere fällt dieses bei den Werten der Dicke auf. Ich berechnete ein mittleres Einzelvolumen von 65,46 μ^3. Die mittlere Dicke betrug 1,80 μ^3, der mittlere Durchmesser 6,80 μ^3 und die mittlere Oberfläche 111,0 μ^2.

In der Tabelle 2 a ist auch der mittlere Ausgangswert der Retikulozytenzahl angegeben, der 3,5 % betrug. Die mittlere Hämoglobinkonzentration betrug 32,6 % und der mittlere Hämoglobingehalt 20,3 $\mu\mu$g.

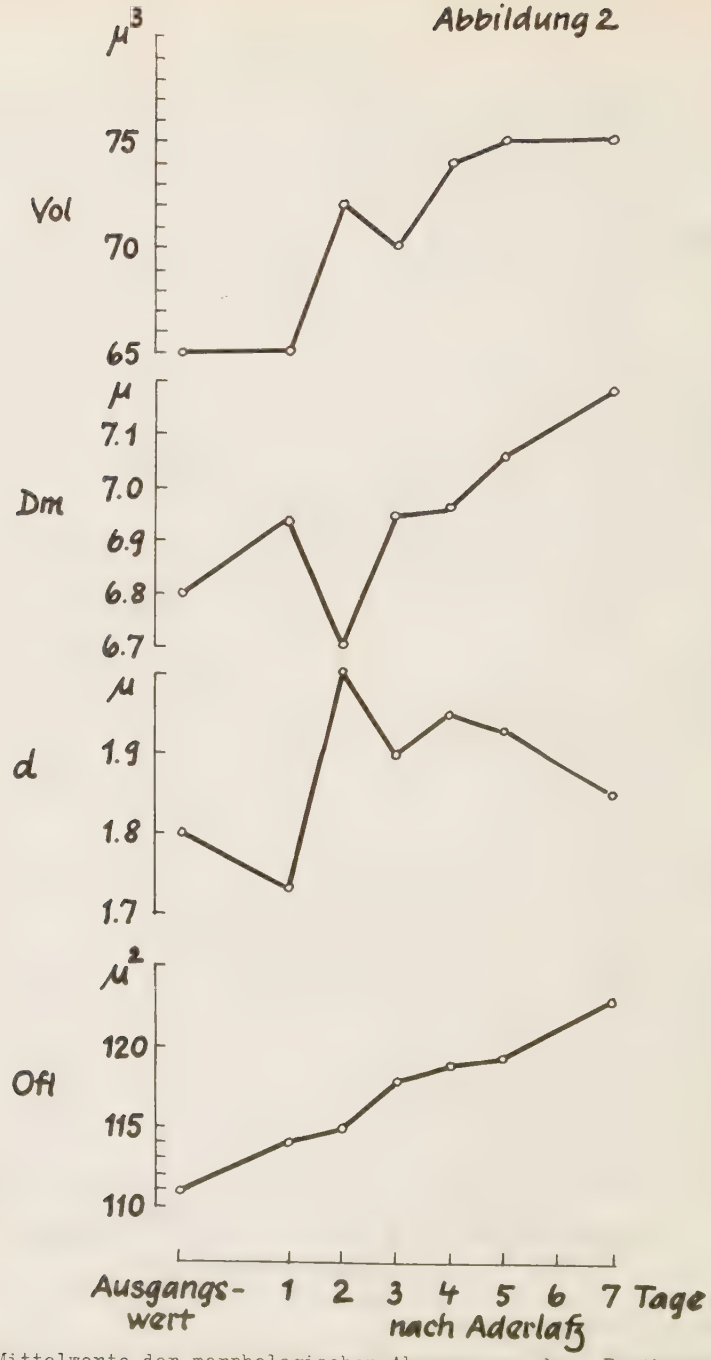
Zur Zeit des Krisenpunktes wurden wiederum die mittleren Werte der verschiedenen Daten berechnet (Tab. 2 b). Man ersieht daraus die Reduzierung der Hämoglobinkonzentration, die im Mittel 8,83 g% betrug, die Erythrozytenzahl sank auf 3,61 Mill./mm^3 und der Hämatokrit auf 28,66 %. Dagegen ist das mittlere Einzelvolumen deutlich gestiegen; der Mittelwert ergab 75,9 μ^3. Ebenso nahm die mittlere Dicke von 1,80 μ auf 1,96 μ zu; der Durchmesser stieg auf 7,04 μ und die Oberfläche auf 121,0 μ^2. Die mittlere Hämoglobinkonzentration hat sich mit rund 30 % kaum verändert, während der mittlere Hämoglobingehalt mit 26 $\mu\mu$g entsprechend der Volumenzunahme deutlich angestiegen ist (Tab. 2 b).

Abbildung 1



Mittelwerte der Standardgrößen des roten Blutbildes von Kaninchen vor und nach Blutentzug: Hämoglobinkonzentration (Hb g%); Erythrozytenzahl (Ery Mill/ mm^3) ; Hämatokrit (Hkt %); Retikulozytenzahl (Reti, in Prozenten der Erythrozytenzahl).

Abbildung 2



Mittelwerte der morphologischen Abmessungen der Erythrozyten von Kaninchen vor und nach Blutentzug:
Mittleres Einzelvolumen (V μ^3); mittlerer Durchmesser (Dm μ); mittlere Dicke (d μ); mittlere Oberfläche (Ofl μ^2).

b) Retikulozyten und Retikulozytenvolumen

Das Normalblut der Kaninchen zeigte einen durchschnittlichen Retikulozytenprozentsatz von 3,5 %. Im Laufe des Versuchsganges stieg dieser Prozentsatz an, um um den Krisenpunkt seinen Höhepunkt zu erreichen. In der Regel wurde der Krisenpunkt am vierten Tag nach der Blutentnahme erreicht; der Wert betrug im Durchschnitt 13,0 %, mit einem Maximalwert von 19,0 % (Tab. 2 b).

In der oberen zentrifugierten Blutschicht fanden sich bis zu 36 % Retikulozyten.

Unter Anwendung der WEICKERschen Formel wurde aus den Daten des Krisentages das Retikulozytenvolumen berechnet; der Mittelwert ergab 182 μ^3.

Berechnete ich das Retikulozytenvolumen aus den Daten der gesamten Krisenzeit bzw. für die gesamte Zeit der Retikulozytenzunahme, bekam ich einen Mittelwert von 169,0 μ^3. Dieser Wert entspricht mit seinem rund 2 1/2 mal größeren Volumen des Ausgangswertes den Angaben mehrerer Autoren (WEICKER, AMBS, BETKE, RUHRMANN u.a.). KÜNZER (25) gibt allerdings ein 1 1/2 - 2 mal größeres Volumen an.

Mit derselben WEICKERschen Formel wurde unter Einsetzung der respektiven Größen mittlere Retikulozytendicke, Durchmesser und Oberfläche berechnet (Tab. 2 c). Man ersieht daraus, daß die mittlere Retikulozytendicke mit 3,97 μ 220 % des Ausgangswertes der Erythrozytendicke beträgt, der Durchmesser mit 9,29 μ 137 % und die Oberfläche mit 223,6 μ^2 200 %. Im Vergleich zum Ausgangsvolumen der Erythrozyten beträgt das Retikulozytenvolumen mit 169 μ^3 rund 257 % desselben. Man erkennt also eine Zunahme von Volumen, Dicke, Durchmesser und Oberfläche des Retikulozyten im Vergleich zum Erythrozyten.

c) pH-Wert

In der Tabelle Nr. 3 sind die Bemessungen und Veränderungen des pH-Wertes, des Normalblutes und der verschiedenen Schichten wiedergegeben.

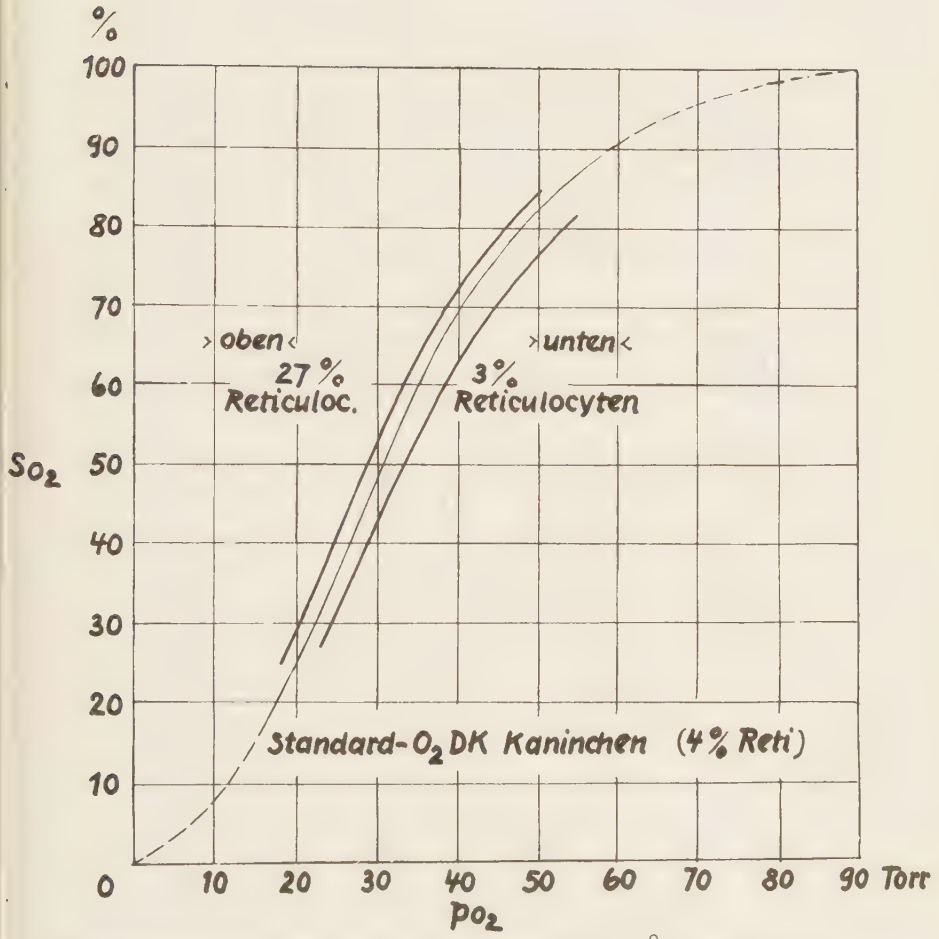
Ich untersuchte den pH-Wert des Plasmas, der oberen und unteren Schicht, mit der jeweiligen Angabe der Retikulozytenzahl, einmal im Normalblut und im Gegensatz dazu während der Krisenzeit.

Der pH-Wert des Plasmas des Normalblutes betrug im Mittel 7.46; in der oberen zentrifugierten Zellschicht 7.20 und in der unteren Schicht 7.24. Die Differenz zwischen der oberen und unteren Zellschicht betrug 0,040; zwischen dem Plasma und den Zellen im Mittel 0,247.

Zur Zeit des Krisenpunktes wurden diese Messungen wiederholt. Der pH-Wert des Plasmas betrug dann im Mittel 7.41, also ähnlich dem Werte des Normalplasmas. Die obere Zellschicht ergab aber einen pH-Wert von 7.11; dieser liegt also tiefer als der Wert derselben Schicht des Normalblutes. In der unteren Zellschicht war der pH-Wert des Krisentages 7.22. Die Differenz zwischen der oberen und unteren Zellschicht des Blutes der Krisenzeit ist 0.11, also größer als die Differenz im Normalblut; hingegen ist die Differenz zwischen den Zellen im Mittel und dem Plasma in der Krisenzeit mit 0.248 den Werten des Normalblutes gleich.

Man kann also sagen, daß die jüngeren Zellen der oberen Schicht um 0.1 Einheiten niedriger liegen, also saurer als die älteren Zellen sind.

Abbildung 3



O_2-Dissoziationskurven des Kaninchenblutes bei 37° C und pH_s 7,4
Standard-DK = O_2-Dissoziationskurve des Gesamtblutes vor Blutentzug;
"oben" = O_2-DK im Blut mit vorwiegend jungen Zellpopulationen;
"unten" = O_2-DK im Blut mit vorwiegend älteren Zellpopulationen;
letztere beiden nach Blutentzug, getrennt durch Sedimentation.
Abszisse: O_2-Druck in Torr (pO_2)
Ordinate: O_2-Sättigung in Prozenten der O_2- Kapazität (S_{O2})

d) Sauerstoffaffinität

Abbildung 3 zeigt die O_2-BK des Kaninchenblutes. Die zugehörigen Analysenwerte sind in Tabelle 5 wiedergegeben.

Die mittlere O_2-BK, von der meine Untersuchungen ausgehen, weist einen Halbsättigungs-O_2-Druck (T 50) von 30,3 Torr auf, während die Kurve aus der unteren Sedimentationsschicht des Krisentages (= ältere Zellen) einen T 50-Wert von 33,2 und die der oberen Zellschicht (= jüngere Zellen oder Retikulozyten) einen T 50-Wert im Mittel von 29,5 aufweisen.

Die Lage der Kurven aus älterem und jüngerem Blut ist statistisch signifikant zu unterscheiden ($p < 0.05$).

V. Diskussion der Ergebnisse

a) Morphologie

Es war mein Vorhaben, das Retikulozytenvolumen unter Berücksichtigung vorheriger Literaturangaben zu überprüfen, um die Ergebnisse zur O_2-Affinität in Relation stellen zu können, falls die früheren Ergebnisse bestätigt werden sollten.

Im Durchschnitt stimmen meine mittleren hämatologischen Ausgangswerte mit denen von WEICKER und KÜNZER überein. Mein mittleres Einzelvolumen von 65,5 μ^3 liegt den Angaben KÜNZERs näher als denen von WEICKER, der von einem mittleren Einzelvolumen von rund 60 μ^3 ausgeht. Derartige Unterschiede sind schwer zu beurteilen ohne Kenntnisse von z.B. Alter, Rasse und Gewicht der Tiere.

Die morphologischen Daten, die im Handbuch "Blood and other Body Fluids" (11) für Kaninchen angegeben werden, stimmen im Durchschnitt gesehen mit meinen überein.

Der Verlauf des Versuchsganges verhält sich im allgemeinen ähnlich dem von WEICKER (45), ebenso der Zeitpunkt der Krise, die im Durchschnitt am vierten Tag erreicht wurde.

Auffallend ist die zum Teil beachtliche Spannungsweite, die sich bei den Berechnungen der Retikulozytengrößen ergaben. Hierbei ist aber zu berücksichtigen, daß diese Bestimmungen ja nicht an einer reinen Retikulozytenschicht gemacht worden sind, sondern nur an einer angereicherten. Unter diesen Umständen fallen möglicherweise mehrere Populationen zusammen, die gemeinsam gemessen werden, so daß hinsichtlich Größe und Einzelbemessungen Differenzen auftreten können. Dieser Einwand gilt, wie schon bemerkt, besonders für die Angaben der Dicke, die mit Vorbehalt zu nehmen sind.

Man kann jedoch unter Berücksichtigung vorheriger Literaturangaben und dargelegten Daten und Ergebnissen nicht umhin anzuerkennen, daß unter bestimmten Voraussetzungen, z.B. nach größeren Blutentnahmen bzw. bei Remissionen von Anämien (BETKE 10, BORSOOK 12), rote Zellen auftreten, die im Mittel ein größeres Volumen aufweisen. Es ist naheliegend, dieses größere Volumen den jüngsten Zellen zuzuschreiben, die man als Retikulozyten erfassen kann.

b) Gastransportfunktion

Bei den gewählten Versuchsbedingungen ergeben meine Versuche eine deutliche Korrelation zwischen der O_2-Affinität, Zellengröße und Alter. Die O_2-BK des retikulozytenreichen Blutes liegt links von der Standardkurve des Kaninchens, d.h.: jüngere größere Zellen besitzen eine höhere O_2-Affinität als ältere und kleinere Zellen, deren O_2-BK rechts von der Normalkurve liegt.

Somit ergab sich eine befriedigende Übereinstimmung mit den Untersuchungen von BARTELS et al. über die O_2-BK erwachsener Menschen (4), wobei eine Korrelation zwischen der Lage der O_2-BK und dem HbA_3-Anteil aufzufinden war; je höher der HbA_3-Anteil, um so niedriger die O_2-Affinität. Der HbA_3-Anteil wird als Alterungsprodukt der Hauptfraktion HbA_1 angesehen.

Die bereits signifikanten Differenzen der Gastransportfunktion zwischen jüngeren und älteren Zellen werden noch größer, wenn man die O_2-BK nicht auf einen Serum-pH-Wert von 7.4, sondern auf ein Zell-pH von 7.2 als Konstante bezieht. Ich fand nämlich, daß die jüngeren Zellen einen wesentlich niedrigeren pH-Wert als die älteren aufweisen. Eine Erklärung hierfür dürfte in der erhöhten Stoffwechselleistung junger Zellen liegen (LÖHR et al. 27).

Die entgegengesetzten Resultate der Untersuchungen von EDWARDS et al. (15) erfordern weitere Versuche. Grundlegende Unterschiede sind: Die Autoren führten ihre Messungen an physiologisch in vivo gealterten Erythrozyten, d.h. physiologischen Zellpopulationen durch, während ich überstürzt ausgeschüttete Zellen untersuchte. EDWARDS et al. haben dagegen den Zell-pH-Wert nicht bestimmt, sondern geschätzt, ein Verfahren, das - wie die eigenen Befunde zeigen - zu falschen Ergebnissen führt.

Für die Klinik sind diese Beobachtungen insofern beachtenswert, als bei der erfolgreichen Behandlung einer Anämie vorübergehend mit einer erhöhten O_2-Affinität zu rechnen ist, wie es tatsächlich bei Anämien verschiedener Genese im Kindesalter nachgewiesen wurde, wodurch die O_2-Versorgung der Organe eingeschränkt ist (RIEGEL 33).

Weiterhin ergeben sich Hinweise dafür, daß die Anpassungsfähigkeit des Blutes über die O_2-Affinität bei Störungen, die einerseits mit einer verkürzten Lebensdauer der Erythrozyten (kongenitale Sphärozytose), andererseits mit vergrößerten Zellen (perniziöse Anämie) einhergehen, beschränkt ist, während, wie bekannt, z.B. eine mikrozytäre Anämie normalerweise bis zu erheblichen Anämiegraden durch die niedrige O_2-Affinität eine vollkompensierte O_2-Transportfähigkeit des Blutes aufweisen kann.

VI. Zusammenfassung

Durch Blutentzug wurde bei Kaninchen die Erythropoese gesteigert. Blut mit jüngeren und Blut mit älteren Zellpopulationen erhielt ich durch Sedimentation. Die Angaben der Literatur über das größere Volumen der unter diesen Bedingungen aufgeworfenen Retikulozyten wurden bestätigt. Ich fand, daß die Retikulozyten gegenüber den reifen Erythrozyten im Mittel ein 2 1/2 mal größeres Volumen aufwiesen. Das mittlere Einzelvolumen der Erythrozyten betrug vor dem Aderlaß 65,5 μ^3, vier Tage später 75,9 μ^3. Die mittlere Dicke war in diesem Zeitraum von 1,80 μ auf 1,96 μ angestiegen; der mittlere Durchmesser von 6,80 μ auf 7,04 μ und die mittlere Oberfläche von 110,0 μ^2 auf 121,1 μ^2. Das bedeutet für die Retikulozyten unter diesen Versuchsbedingungen folgende Relationen: Eine rund 2 1/2 mal größere Dicke, ein rund 1 1/2 mal größerer Durchmesser und eine 2 mal größere Oberfläche gegenüber den Erythrozyten. Das mittlere Einzelvolumen der Retikulozyten betrug 169,0 μ^3.

Außerdem konnte festgestellt werden, daß diese jüngeren Zellpopulationen ein um 0.1 E niedrigeres Zell-pH als die älteren Populationen besitzen sowie eine signifikant höhere O_2-Affinität haben (Halbsättigungs-O_2-Druck T 50 = 29,5 gegen 33,2). Diese Befunde könnten klinisch von Bedeutung sein; z.B. bei den Remissionen von Anämien. Sie sind nicht ohne weiteres auf die Zellen der normalen Erythropoese übertragbar.

VII. Literatur

1. AMBS, E.
Hämoglobinverteilungskurven bei experimentellen Anämien. Frage der Retikulozyten.
Acta haemat. Basel, 18, 336 (1957).

2. AMBS, E.
Über große und hämoglobinreiche Retikulozyten in der Krise von Anämien.
Schweiz. med. Wschr. 90, 410-419 (1960).

3. AUGUSTIN, H.W. und S. RAPOPORT
Über den Reifungsprozeß kernhaltiger Erythrozyten.
Acta biol. et med. german. 6, Heft 3 (1960).

4. BARTELS,H., K.BETKE, P.HILPERT, G.NIEMEYER und K.RIEGEL
Die sogenannte Standard-O_2-Dissoziationskurve des gesunden erwachsenen Menschen.
Pflügers Archiv Physiol. 272, 372-383 (1961).

5. BARTELS, H. und K. RIEGEL
Physiologische Veränderungen der O_2-Dissoziationskurven-Lage beim Menschen, Schaf und Ziegen.
Pflügers Archiv Physiol. 270, 62 (1959).

6. BARTELS, H., H.HARMS, V.PROBST, K.RIEGEL und J.SCHNEIDER
Sauerstoffbindungskurve, fetales Hämoglobin und Erythrozytenmorphologie bei Frühgeborenen und Säuglingen.
Klin. Wschr. 37, 664-665 (1959).

7. BARTELS,H., P.HILPERT und K.RIEGEL
Die O_2-Transportfunktion des Blutes während der ersten Lebensmonate von Mensch, Ziege und Schaf.
Pflügers Archiv Physiol. 271, 169-184 (1960).

8. BARTELS,H., P.HILPERT und K.RIEGEL
O_2-Trandport bei wachen Zicklein und Lämmern während der ersten Lebenswochen.
Pflügers Archiv Physiol. 272, 59 (1960).

9. BARTELS, H. und K. RIEGEL
Faktoren, die die Lage der Sauerstoffbindungskurve des Blutes beeinflussen.
Aus "Beiträge zur Silikose-Forschung", Heft 60, 1959.

10. BETKE, K. und I. RODIG
Zur Frage des Volumens der vitalgranulierten Erythrozyten (Retikulozyten).
Klin. Wschr. 37/38, 911-912 (1955)

11. Blood and other Body Fluids. Biol. Handbooks. Federation of American Societies for Experimental Biology, Washington 1961.

12. BORSOOK,H., J,B.LINGREL, J.S.SCARO and R.L.MILETTE
Synthesis of Haemoglobin in Relation to the naturation of erythroid cells.
Nature, Vol. 196, No. 4852, 347-350 (1962).

13. BRITTINGER, G.
Neue Ergebnisse der Erythropoeseforschung.
Dtsch. med. Wschr. 30, 1346-1348 (1960).

14. DAUB, R.
Untersuchungen zum Krankheitsbild der chronischen Erythroblastenphthise.
Inaug. Diss. Tübingen 1961.

15. EDWARDS,M.J., R.D.KOLLER, D.A.RIGAS and D.M.PITCAIRN
The effect of in vivo of normal human erythrocytes and erythrocyte macromolecules upon oxyhemoglobin dissociation.
J. Clin. Invest. 40, 4, 636-642 (1961).

16. FICHSEL, H.
Der Umfang des Hämoglobinisierungsprozesses im Retikulozyten.
Zschr. exper. Med. Berlin 132, 18-26 (1959).

17. FLEISCHMANN, R.G.
Bohreffekt und Sauerstoffaffinität des Blutes bei Säugetieren.
Inaug. Diss. Tübingen 1961.

18. FRIEDERICI, L.
Der Erythrozyt.
Heidelberg 1958, Dr.A.Huthig Verlag GmbH.

19. GABEL, F.
Supravitalfärbung,aus HEILMEYER,L. und A.HITTMAIR:
Handbuch der ges. Häm. 1960, 2. Bd./2.Teil, 2. Halbband.
München-Berlin: Urban & Schwarzenberg 1960.

20. HANSSLER, H. und K. RIEGEL
Studien zur Blutmorphologie des Neugeborenen.
Zschr. Kinderhk. 75, 140-161 (1954).

21. HEILMEYER, L. und A. HITTMAIR
Handbuch der ges. Häm., 1. bis 5. Band.
München-Berlin: Urban & Schwarzenberg 1959-1960.

22. HILPERT,P., R.FLEISCHMANN, D.KEMPE and H.BARTELS
The Bohreffect related to blood and erythrocyte pH.
Amer. S. Physiol. Im Druck.

23. KAHRIG, C. und S. RAPOPORT
Das Verhalten der Atmung und der Glukose-6-Phosphat-dehydrogenase roter Blutkörperchen während einer Entblutungsanämie bei Kaninchen.
Acta biol. et med. german. 6, Heft 3 (1961).

24. KEITEL,H.G., H.BERMAN, H.JONES and E. MAC LACHLAN
The chemical composition of normal human red blood cells, including variability among centrifuged cells.
Blood 10, 370 (1955).

25. KÜNZER,W., E.AMBS und D.SCHNEIDER
Untersuchungen über das Retikulozytenvolumen.
Zschr. Kinderhk. 77, 90-94 (1955).

26. KÜNZER, W.
Untersuchungen zur Reifungszeit der Retikulozyten von Neugeborenen, jungen Säuglingen und Frühgeburten.
Zschr. Kinderhk. 77, 249-260 (1955).

27. LÖHR,G.W., H.J.WALLER, O.KARGES, B.SCHLEGEL und A.A.MÜLLER
Zur Biochemie der Alterung menschlicher Erythrozyten.
Klin. Wschr. 36, 1008 (1958).

28. NORDSTRÖM, K.
The reticulocyte-reaction in hypoxia of short duration.
Acta med. Scand. (Stockh.) 158, Suppl. 326, 5-104 (1957).

29. PRANKERD, T.A.J.
The ageing of red cells.
J. Physiol. 143, 325-331 (1958).

30. RIEGEL,K., P.HILPERT und W.MOLL
Gasaustausch bei Anämien.
Bad Oeynhausener Gespräche über Physiologie und Pathologie des Gasaustausches in der Lunge. S. 66-73 (1960).
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1961.

31. RIEGEL,K., H.BARTELS und J.SCHNEIDER
Veränderungen der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins und der Erythrozyten im Blut von Neugeborenen und ausgetragenen Säuglingen im 1. Trimenon.
Zschr. Kinderhk. 83, 209-229 (1959).

32. RIEGEL,K., P.HILPERT und H.BARTELS
Vergleichende Untersuchungen der Erythrozytenmorphologie des fetalen Hämoglobins und der Sauerstoffaffinität des Blutes von Säuglingen, Zicklein und Lämmern.
Acta haemat. Basel 25, 164-183 (1961).

33. RIEGEL, K.
Unveröffentlicht.

34. RUHENSTROTH-BAUER, G.
Die Regelung der Erythrozytenkonzentration im Blute.
Aus: HEILMEYER,L. und A.HITTMAIR, Handb. d. ges. Häm.
2. Bd., 2. Teil, 1. Halbband.
München-Berlin 1959: Urban & Schwarzenberg.

35. RUHRMANN, G.
Untersuchungen über die Erythropoese bei der Erythrogenesis imperfecta (Blackfan-Diamond-Anämie).
Vortrag Med. naturw. Verein Tübingen 1962.
Med. Welt 1962, 1958.

36. SEIP, M.
Reticulocyte studies. The liberation of red blood corpuscles from the bone marrow into peripherical blood and the production of erythrocytes elucidated by reticulocyte investigations.
Acta med. scand. (Stockh.) 146, Suppl. 282 (1953).

37. SENO, S.
Die Struktur der Retikulozyten.
Aus: HEILMEYER, L. und A. HITTMAIR, Handb. d. ges. Hämat.
1. Bd. München-Berlin: Urban & Schwarzenberg 1957.

38. SOMMERKAMP,H., K.RIEGEL, P.HILPERT und K.BRECHT
Über den Einfluß der Kationenkonzentration im Erythrozyten auf die Lage der Sauerstoff-Dissoziationskurve des Blutes.
Pflügers Archiv Physiol. 272, 591-601 (1961).

39. THOENES, W.
Dickenmessungen an normalen Erythrozyten.
Acta haemat.(Basel) 22, 266-277 (1955).

40. THOENES, W.
Pathologische Anisozytose und Erythrozytendicke.
Acta haemat. (Basel) 25, 244-260 (1955).

41. VALTIS, D.S. und A.G. BAIKIE
The influence of red cells thickness on the oxygen dissociation on curve of blood.
Brit. J. haemat. 1, 146 (1955).

42. WEICKER, H.
Das quantitative Gleichgewicht der Erythropoese.
Klin. Wschr. 27-28, 637-644 (1953).

43. WEICKER, H.
Exakte Kriterien des Knochenmarks. Die Maß und Mengenrelation der Erythroblasten als Ausdruck der Reifung und Teilungsgesetze der Erythropoese.
Schweiz. med. Wschr. 245-251 (1954).

44. WEICKER, H.
Metrische Analyse und kombinatorische Logik als Methoden zur Aufschlüsselung erythropoetischer Probleme.
Schweiz. med. Wschr. 1125-1126 (1954).

45. WEICKER, H. und H. FICHSEL
Das Retikulozytenvolumen.
Klin. Wschr. 45-46, 1074-1082 (1955).

46. WEICKER, H.
Untersuchungen über das Retikulozytenvolumen.
Zschr. Kinderhk. 77, 544-548 (1955).

47. WEICKER, H.
Quantitative Retikulozytenprobleme.
Schweiz. med. Wschr. 947-950 (1955).

48. WIRTH, D.
Studien für artspezifische Reaktionen der hämatopoetischen Organsysteme.
Folia haemat. 51, 242 (1934).

TABELLE 1

Datum	Hb (g%)	Ery (Mill/mm^3)	CV (%)	MCV (u^3)	MT (u)	MD (u)	MSA (u^2)	R (%)	MCHC (%)	MCH (uug)	Bemerkungen
					a) Hase Nr. 1 - Gewicht: 3260 gr. -						
15.6.	11,27	6,73	35,5	52,7	1,48	6,74	102,9	2,1	31,7	16,7	30 ml Blut
16.6.	11,48	4,70	31,0	66,0	1,84	6,80	110,8	3,7	37,0	24,4	15 ml Blut
17.6.								3,6			15 ml Blut
19.6.	9,71	4,84	39,2	81,0	2,05	7,16	126,6	12,6	23,0	20,1	
20.6.	9,23	4,55	38,5	84,6	2,08	7,20	128,5	10,8	24,0	20,3	
21.6. A:	9,18	5,31	33,8	63,6	1,56	7,20	117,1	9,8	27,2	17,3	15 ml Blut
0:	8,16	3,71	31,9	86,0	1,91	7,58	135,8	18,6	25,6	22,0	
U:	10,50	4,70	25,0	53,2	1,48	6,70	102,9	1,5	42,4	22,5	
26.6.	14,13	6,44						4,2			
					b) Hase Nr. 2 - Gewicht: 2325 gr. -						
28.6.	11,21	6,30	36,7	58,2	1,48	6,98	109,2	5,9	30,5	17,8	
29.6.	10,55	6,12	35,6	58,2	1,60	6,90	107,0	5,6	29,6	17,3	
30.6.											30 ml Blut
1.7.	8,61	4,37	27,1	62,8	1,69	6,84	110,0	6,2	31,7	19,1	15 ml Blut
3,7.	8,17	3,55	24,9	67,6	1,80	6,90	114,0	14,3	32,8	23,0	
4.7.	7,50	3,29	23,7	71,1	1,92	6,86	115,5	19,6	31,6	32,7	
5.7. A:	8,74	4,01	29,0	72,2	1,84	7,08	129,0	10,8	30,1	21,8	20 ml Blut
0:	8,83	3,16	26,3	83,3	1,96	7,36	130,2	30,4	33,6	28,0	
U:	9,05	3,92	24,5	62,3	1,65	6,94	110,5	4,2	36,8	23,1	
					c) Hase Nr. 3 - Gewicht: 3285 gr. -						
6.7.	10,51	5,91	35,3	59,9	1,43	7,30	115,0	2,2	28,7	17,2	40 ml Blut
8.7.		4,12	26,2	62,2	1,64	6,96	112,0	4,2			15 ml Blut
10.7.	8,39	4,13	27,1	65,8	1,67	7,04	116,1	7,4	30,8		10 ml Blut
11.7.	10,38	4,32	28,7	67,4	1,67	7,30	118,7	11,8	36,1	28,6	
12.7. A:	9,40	4,26	30,5	71,6	1,90	6,92	116,0	11,0	30,8	22,1	30 ml Blut
0:	8,72	4,01	31,5	78,8	1,85	7,34	127,8	34,0	27,7	21,7	
U:	9,27	4,78	26,3	55,0	1,28	7,36	115,4	2,2	35,3	19,4	
27.7.	11,43	5,87	36,3	61,9	1,60	7,02	112,8	1,5	31,4	19,5	10 ml Blut
					d) Hase Nr. 4 - Gewicht: 3032 gr. -						
11.7.	11,17	4,54	31,1	68,2	1,80	6,96	115,5	2,8	35,9	24,6	
12.7.	11,39	4,67	30,4	65,1	1,68	7,02	114,6	4,0	37,5	24,4	
14.7.	10,50	4,71	30,4	64,6	1,67	7,02	114,4	4,0	34,5	22,3	30 ml Blut
15.7.		3,64	26,2	72,0	1,87	6,98	117,9	7,2			15 ml Blut
17.7.	8,83	3,47	25,8	74,3	1,83	7,18	122,5	11,4	34,2	25,5	
19.7.	8,83	3,63	28,6	78,9	1,85	7,36	127,7	11,3	30,9	24,3	8 ml Blut
20.7.A:	8,17	3,84	27,5	71,6	1,72	7,28	122,9	18,9	29,7	21,3	
0:	5,96	3,10	25,7	83,0	1,86	7,52	132,0	36,8	29,8	23,2	
U:	9,27	3,56	22,5	63,0	1,64	7,00	123,0	5,2	36,1	20,3	

TABELLE 1 (Forts.)

Datum	Hb (g%)	Ery (Mill/mm³)	CV (%)	MCV (u³)	MT (u)	MD (u)	MSA (u²)	R (%)	MCHC (%)	MCH (uug)	Bemerkungen
				e) Hase Nr. 5 - Gewicht: 3260 gr. -							
19.7.	10,60	4,83	32,7	67,6	1,86	6,80	112,5	1,8	32,4	21,9	8 ml Blut
20.7.	9,27	4,33	29,1	67,3	1,65	7,20	119,1	2,4	31,9	21,4	
21.7.											10 ml Blut
22.7. A:	9,27	4,25	29,9	70,4	1,80	7,04	119,5	3,1	31,0	21,8	30 ml Blut
O:	11,20	4,23	34,9	82,5	2,30	6,76	120,6	7,6	21,6	26,1	
U:	10,24	4,64	28,8	64,4	1,77	6,80	110,3	2,6	35,6	22,9	
27.7.	7,40	3,09	22,3	72,1	1,94	6,88	116,3	13,2	33,7	24,3	
27.7.	7,77	3,15	28,8	91,4	2,32	7,08	131,0	13,6	27,0	24,7	
				f) Hase Nr. 6 - Gewicht: 3600 gr. -							
6.12.	10,76	4,82	35,6	73,8	2,16	6,60	112,0	2,1	30,2	22,3	
7.12.	9,72	4,62	33,6	72,6	2,21	6,46	110,6	2,0	28.9	21,0	
8.12.	10,08	4,67	35,6	76,2	2,19	6,76	116,1	2,6	30,4	23,1	
9.12.	10,44	4,80	37,0	77,0	2,20	6,64	115,7	3,4	28,2	21,7	10 ml Blut
11.12.	8,26	4,16	32,1	77,0	2,12	6,82	119,2	3,6	25,7	19,8	10 ml Blut
12.12.	7,56	4,01	30,4	75,4	2,09	6,78	117,0	7,6	24,9	18,9	15 ml Blut
13.12.	7,92	3,93	28,3	77,1	2,14	6,76	119,9	7,2	28,0	20,2	20 ml Blut
14.12.		3,13	22,0	70,1	1,96	6,74	113,1	9,4			
15.12.								9,6			
16.12.			32,0					7,2			
				g) Hase Nr. 7 - Gewicht: 4000 gr. -							
24.1.		4,26	27,2	64,0	1,83	6,68	108,4	5,0			
25.1.		3,99	26,5	66,0	2,00	6,46	106,2	6,0			
27.1.		3,99	26,5								48 ml Blut
29.1.		3,40	23,2	67,5	1,85	6,82	112,7	12,0			
30.1.		3,43	25,0	74,6	1,95	6,98	119,2	13,6			
31.1. O:								38,0			pH Messung
U:								4,0			
				h) Hase Nr. 8 - Gewicht: 3800 gr. -							
20.2.		4,96	30,7	69,6	1,83	6,56	105,6	4,2			50 ml Blut
											pH Messung
22.2.		3,45	25,5	73,9	2,27	6,44	112,5	12,0			
23.2.		3,60	25,9	72,0	2,12	6,84	112,5	12,5			
24.2.		4,10	29,2	72,8	1,98	6,88	117,0	13,3			pH Messung

TABELLE 2

Datum	Hb (g%)	Ery Mill/$_{mm^3}$)	CV (%)	MCV (u^3)	MT (u)	MD (u)	MSA (u^2)	R (%)	MCHC (%)	MCH (uug)	MRV (u^3)
			a) Normalwerte der Kaninchen.								
Min.:	10,15	4,26	27,2	52,9	1.48	6.46	102,9	1,8	28,7	16,7	
Mittel:	10,86	5,36	32,6	65,5	1,80	6,80	111,0	3,5	32,6	20,3	
Max.:	11,27	6,73	36,7	76,2	2,21	7,30	116,1	4,2	37,5	24,6	
			b) Mittelwerte der Krisentage (Krise in der Regel am 4. Tag).								
Min.:	7,53	3,13	22,0	67,4	1,67	6,86	113,1	9,4	23,0	20,1	80,4
Mittel:	8,83	3,61	28,7	75,9	1,96	7,04	121,1	13,0	29,7	26,0	182,5
Max.:	10,38	4,84	39,2	91,4	2,05	7,36	131,0	19,6	36,1	32,7	285,0
			c) Retikulozyten: Mittelwerte der Kaninchen.								
					3,97	9,29	223,6				169,0

TABELLE 3: pH-Werte

Tier Nr.	Vor der Krise						
	Datum	pH Plasma	Retikulozyten	oben pH Zellen	oben Retikulozyten	unten pH Zellen	unten Retikulozyten
6)							
7)	8.9.	7.440	5,2	7.191		7.183	
8)							
9)	20.2.	7.481	4,2	7.252		7.329	
	" "	7.465	4,2	7.154		7.201	
Mittel:		7.465	4,5	7.199		7.238	
					0,039		
				0,247			

Tier Nr.	Nach der Krise						
	Datum	pH Plasma	Retikulozyten	oben pH Zellen	oben Retikulozyten	unten pH Zellen	unten Retikulozyten
	5.9.	7.482	-	7.135	16,8	7.205	3,8
	14.9	7.319	9,8	7.044	13,6	7.161	2,5
	31.1.	7.441	13,0	7.147	38,0	7.306	4,0
Mittel:		7.414	11,4	7.109	22,8	7.224	3,4
					0,115		
				0,248			

Tier	Tag	p_{O2}	p_{CO2}	C_{O2} comb	SO_2	C_{CO2} comb	pH_s	p_{O2} pH_s 7,4	Retikulo-zyten	
1	15.6.	227,0	42,8	15,13	100.0	60,1			2,1	
		227,0	42,8	15,10	100,0	60,4				
		23,6	49,7	4,60	30,4	64,8	7,383	23,1		
		28,6	47,4	6,84	45,3	62,3	8,388	28,2		
		47,3	43,8	11,62	75,9	61,3	7,415	48,0		
	21.6.	228,5	41,8	10,27	100	53,9			18,6	
		28,7	47,7	4,16	43,4	58,0	7,354	27,3		oben
		47,6	44,1	8,49	82,7	56,2	7,374	46,3		
		228,5	41,8	13,62	100	58,0			1,5	
		28,7	47,7	5,82	42,7	62,3	7,386	28,3		unten
		47,6	44,1	10,28	75,5	60,5	7,406	48,0		
2	30.6.	219,0	41,9	13,48	100	53,0			5,0	
		219,0	41,9	13,74	100	50,5				
		23,8	50,1	3,79	28,1	59,0	7,339	22,2		
		28,8	47,8	5,60	41,5	57,9	7,352	27,3		
		47,5	46,2	10,32	76,6	56,1	7,353	45,1		
	5.7.	218,0	41,8	9,48	100	57,8			30,4	
		28,7	47,6	4,38	46,7	58,7	7,359	27,4		oben
		47,3	46,0	7,58	80,0	60,5	7,388	48,0		
		218,0	41,8	16,80	100	59,6				
		23,7	49,9	4,20	25,0	68,0	7,403	23,7	4,2	
		28,7	47,6	6,58	39,2	66,9	7,416	29,1		unten
		47,3	46,0	11,63	69,3	66,6	7,429	48,9		
3	7.7.	218,5	41,8	14,36	100	49,1			2,5	
		218,5	41,8	14,35	100	49,3				
		218,5	41,8	14,25	100	47,4				
		23,7	50,0	3,43	23,9	53,9	7,301	21,2		
		28,7	47,7	4,51	31,4	48,8	7,280	25,2		
		47,4	46,1	10,73	74,8	51,0	7,312	43,0		
	12.7.	215,0	41,1	11,97	100	41,1			34,0	
		23,2	48,9	1,84	15,4	41,9	7,201	18,6		oben
		28,2	46,9	4,65	38,9	43,3	7,235	23,5		
		46,4	45,1	9,64	80,6	44,0	7,258	39,7		
		215,0	41,1	11,97	100	43,2			2,2	
		28,2	46,8	3,90	32,6	47,3	7,274	24,6		unten
		46,4	45,1	8,09	67,7	44,8	7,265	40,0		
	27.7.	216,0	41,4	15,64	100	34,2			2,5	
		28,5	47,2	3,99	25,5	39,7	7,193	22,6		oben
		46,9	45,6	8,55	55,4	38,2	7,192	37,2		
		216,0	41,4	13,02	100	35,2			1,8	
		28,5	47,2	4,37	31,4	39,2	7,188	22,5		unten
		46,9	45,6	8,14	58,5	38,1	7,191	37,2		
4	14.7.	215,0	41,1	14,00	100	36,8			4,0	
		215,0	41,1	13,39	100	37,6				
		215,0	41,1	13,78	100	39,2				
		24,7	49,2	2,20	15,8	42,0	7,200	19,8		
		28,3	46,9	4,09	29,2	32,8	7,113	20,6		
		46,6	45,4	8,53	63,7	39,2	7,205	37,6		

Tier	Tag	p_{O_2}	p_{CO_2}	C_{O_2} comb	SO_2	C_{CO_2} comb	pH_s	p_{O_2} pH_s 7,4	Retikulo-zyten	
4	19.7.	216,0	41,3	11,57	100	54,6			11,3	
		216,0	41,3	11,20	100	54,2				
		17,3	50,0	1,64	14,4	59,6	7,345	16,3		
		28,4	47,1	4,65	41,1	58,0	7,359	27,1		
		46,8	45,5	8,34	73,5	55,6	7,355	44,5		
	20.7.	216,5	41,4	12,11	100	53,2				
		17,3	50,2	1,75	14,5	60,0	7,346	16,3	36,8	
		28,5	47,3	4,73	39,1	58,0	7,357	27,2		oben
		47,0	45,7	8,76	72,4	55,7	7,355	44,7		
		216,5	41,4	8,55	100	49,3			5,2	
		28,5	47,3	2,84	33,3	53,5	7,322	26,2		unter
		47,0	45,7	5,61	66,1	51,4	7,320	43,0		
5	21.7.	217,0	41,6	13,26	100	51,1			2,0	
		17,4	50,4	2,25	17,0	50,0	7,265	15,0		
		28,6	47,4	5,98	45,1	54,0	7,326	26,4		
		47,2	45,9	10,25	77,4	53,4	7,335	44,0		
	22.7.	217,2	41,5	15,29	100	31,5			7,6	
		28,6	47,4	4,93	32,0	39,0	7,185	22,5		oben
		47,1	45,8	9,75	63,4	36,9	7,176	36,8		
6	29.8.	218,0	41,8	13,87	100	60,4			5,4	
		28,7	47,7	6,43	46,4	64,1	7,398	28,7		
		32,1	36,8	8,52	61,5	60,6	7,484	35,2		
		47,4	46,1	10,80	77,9	63,0	7,404	47,6		
	30.8.	218,0	41,8	12,09	100	44,4				
		28,7	47,7	4,27	35,3	49,3	7,283	25,3		
		32,1	36,8	6,18	51,1	44,0	7,346	30,3		oben
		47,4	46,1	8,85	73,2	47,2	7,280	41,5		
		218,0	41,8	11,29	100	45,4				
		28,7	47,7	4,30	38,1	50,4	7,293	25,6		
		32,1	36,8	5,44	48,2	45,7	7,362	30,8		unter
		47,4	46,1	7,90	70,0	48,8	7,294	41,2		
	4.9.	217,0	41,5	12.65	100	48,9			14,1	
		28,5	47,3	5,26	41,6	53,0	7,317	26,0		
		31,2	36,5	7,01	55,4	48,4	7,392	30,9		
		47,0	45,8	9,85	77,9	50,7	7,313	42,7		
	5.9.	216,0	41,3	10,11	100	44,0			16,8	
		28,4	47,1	4,17	41,3	47,8	7,276	24,7		
		31,8	36,3	5,22	51,7	42,0	7,332	29,7		oben
		46,8	45,5	8,12	80,3	46,0	7,272	40,7		
		216,0	41,3	15,58	100	46,1			3,8	
		28,4	47,1	5,28	33,9	52,2	7,314	26,1		unter
		31,8	36,3	6,99	44,9	46,0	7,371	30,9		
		46,8	45,5	10,81	69,4	46,0	7,273	40,7		

p_{O_2} und p_{CO_2}: Äquilibriergasdrucke in mm Hg für O_2 und CO_2 im Kugeltonometer.

C_{O_2} comb und C_{CO_2} comb: Gehalt des Blutes an chemisch gebundenem und physikalisch gelöstem O_2 bzw CO_2 in Vol %.

S_{O_2}: Prozentuale O_2Sättigung des äquilibrierten Blutes.

pH_s: Gasometrisch berechneter pH Wert des Serums.-

pO_2 $p_{Hs=7.4}$: Auf pHs=7.4 bei der gefundenen O_2Sättigung umgerechneter O_2 Druck des Blutes.-

Mittelwerte der O_2-Bindungskurven der Kaninchen

% SO_2:	20	30	40	50	60	70	80	85
a) Ausgangswerte								
Min.:	15,8	20,9	24,7	28,2	33,0	39,1	46,1	51,2
Mitt.:	17,7	22,5	26,4	30,3	35,9	40,7	48,6	53,8
Max.:	21,9	24,5	28,7	31,6	35,8	43,2	50,8	56,4
b) Blut am Krisentag, obere Zellschicht								
Min.:		20,4	24,0	28,5	31,4	36,2	40,5	45,0
Mitt.:		21,5	25,4	29,5	33,3	39,4	46,4	51,4
Max.:		23,4	27,6	31,9	36,5	43,0	51,3	56,5
c) Blut am Krisentag, untere Zellschicht								
Min.:		23,2	27,3	31,8	36,7	41,1	49,2	
Mitt.:		24,3	28,6	33,2	38,8	44,8	53,6	
Max.:		25,7	30,1	35,5	42,5	49,4	58,9	

Herrn Professor Dr. med. Klaus Betke sei an dieser Stelle noch für seine Hilfsbereitschaft gedankt. Ebenso Herrn Dr. med. Klaus Riegel für die Übergabe des Dissertationsthemas und seine Anleitung und Hilfe.
Fräulein Koch danke ich für die Ausführung der technischen Arbeiten.

L e b e n s l a u f

Am 26. Dezember 1936 wurde ich als Tochter des Dipl.Ing. Alfred Bergner und seiner Ehefrau Charlotte, geb. Boettcher, in Manila, Philippinen, geboren.

Seit April 1939 lebte ich in Argentinien. Dort besuchte ich die Schule, die ich Dezember 1953 mit dem Abitur abschloß. Im März 1954 begann ich mit dem Medizinstudium an der medizinischen Fakultät der Universität Buenos Aires. Ab Januar 1958 war ich für zwei Jahre im Hospital Municipal de Vicente López als Praktikantin tätig. Im August 1960 legte ich in Buenos Aires das Staatsexamen ab. Danach arbeitete ich als Assistentin in der Kinderabteilung des Hospitals Ramos Mejía. Im März 1961 bekam ich ein Stipendium des Deutschen Akademischen Austauschdienstes und arbeitete bis Januar 1963 als Praktikantin an der Universitäts-Kinderklinik Tübingen. Dort wurde mir auch meine Dissertationsarbeit ermöglicht.